

ANATOMIA DA FÔLHA DO GUARANÁ
Paullinia cupana var. *sorbilis* (Mart.) Ducke (*Sapindaceæ*)

CLARISSE ALVES DE AREIA
Jardim Botânico do Rio de Janeiro

INTRODUÇÃO

Consultando a bibliografia existente sôbre a anatomia do guaraná, *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, verificamos que os trabalhos mais recentes visam sômente à anatomia do fruto (MILANEZ, 1959) e da semente (ARENS, 1956). No trabalho do Dr. OTHON MACHADO (1945) o assunto é principalmente encarado sob o ponto de vista farmacognóstico. Propuzemo-nos então realizar o estudo anatômico da fôlha.

Observamos que existe uma notável diferença estrutural entre a fôlha jovem e a adulta, o que nos levou a dividir êsse estudo em duas etapas. Na primeira, que ora apresentamos, tratamos da anatomia da fôlha adulta, em trabalho posterior, já iniciado, trataremos dos caracteres anatômicos da fôlha jovem, possivelmente acompanhados de detalhes relativos à sua estrutura sub-microscópica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas as fôlhas de exemplares existentes na região amazônica do parque do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Os estudos foram efetuados em fragmentos do terço médio e do bordo das fôlhas frescas, ou fixados em F. P. A., ou ainda em tetróxido de ósmio a 2%.

Os cortes de material fresco foram efetuados com o auxílio do micrótomo de Ranvier e navalha histológica. Usamos também cortes de 1/2 micron e ultra-finos (0,05 a 0,1 micra), obtidos com o micrótomo PORTER-ELUM provido de navalha de diamante Leitz, com a finalidade de melhor evidenciar os estômas, o que se conseguiu com o auxílio da microscopia eletrônica. Neste caso, após a fixação em ósmio, o material foi incluído em metacrilato de butila e metacrilato de metila em partes iguais, sendo nos cortes ultra-finos o contraste intensificado pela impregnação com citrato de chumbo. As micrografias eletrônicas foram tomadas com o microscópio SIEMENS EIMISKOP I da Seção de Microscopia Eletrônica do Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Entregue para publicação em 12 de julho de 1965.

Os cortes histológicos normais, de material fixado, foram corados pela hematoxilina-safranina, Sudan IV, e safranina-verde rápido, esta última técnica mais largamente empregada pela sua facilidade e rapidez.

No estudo das epidermes, procedemos ao isolamento das mesmas pela mistura de Jeffrey (ácido nítrico e ácido crômico a 10% em partes iguais). Empregamos também o método das réplicas (CASTRO, 1961), que uma vez obtidas foram fotografadas para melhor observação da área dos estômas.

A média de estômas por unidade de área foi obtida através de pequenos quadrados situados no terço médio da fôlha, entre a nervura principal e o bordo. Na contagem dos estômas, servimo-nos da câmara clara Leitz, com a qual desenhamos um quadrado de 0,5 mm de lado. Observamos, com a mesma combinação de lentes, diversas preparações de epidermes, contando os estômas situados dentro do quadrado.

EPIDERMES

São uniestratificadas em ambas as faces. Observando a epiderme superior em vista frontal notamos que suas células apresentam contôrno sinuoso, e as paredes externas possuem adelgaçamentos bem visíveis (foto n.º 1). Aproximando-se das nervuras, suas paredes tornam-se espessas e retilíneas. Sômente na vizinhança das nervuras ocorrem alguns pêlos glandulares. Estômas ausentes nesta região, surgindo porém em grupos lineares em ambas as margens da nervura principal. Notam-se cicatrizes conseqüentes da queda de pêlos glandulares, que ocorrem na fôlha jovem, sendo caducos na fôlha adulta.

A epiderme inferior, também em vista frontal, mostra células com paredes igualmente sinuosas, como se vê na fotografia n.º 2, podendo-se observar os núcleos e estômas numerosos do tipo *anomocítico* (ranunculáceo). Aí se encontram também pêlos unicelulares e pluricelulares, aquêles mais freqüentes.

A epiderme ventral é recoberta por uma camada cuticular com cerca de 2 micra, um pouco mais espessa ao nível da nervura principal. A face dorsal é também recoberta por cutícula notadamente bem mais fina que a da epiderme superior. Observamos estrias em ambas as faces, apenas em tórno da inserção dos pêlos.

Em corte transversal do limbo, as células da epiderme superior são retangulares, com cerca de 20-22 micra de altura (foto n.º 4). As paredes anticlíneas destas células apresentam-se também espessadas por camadas cutinizadas. Possuem geralmente um grande vacúolo, que ocupa quase tôda a cavidade celular, e cujo conteúdo tem aspecto granuloso e se cora pela safranina e pelo Sudan IV.

Na face abaxial, as células epidérmicas têm contôrno irregular com cerca de 17 a 20 micra de altura (foto n.º 4).

1 — *Pêlos unicelulares* — São ponteagudos e se formam pela diferenciação de uma célula epidérmica (foto n.º 9), apresentando paredes ex-

traordinariamente espessas (10 a 10,5 micra) com fino revestimento de cutícula, evidenciada pelo Sudan IV. Em material fresco, às vezes se pode perceber a presença de pequenos grânulos na superfície externa da parede. O lume é muito reduzido, e nêle às vezes se observa conteúdo granuloso. Na região basal, notamos que o espessamento da parede é menos acentuado, havendo conseqüentemente um aumento do lume celular (figura I). Atingem mais ou menos, 150, micra de comprimento, e alguns dêles são encurvados. Pela reação da floroglucina clorídrica podemos afirmar que suas paredes são impregnadas de lignina, com especialidade na região basal, onde a coloração se mostra mais intensa.



Fig. I

2 — *Pêlos pluricelulares* — São glandulares, formados por divisão de uma célula epidérmica. O número de células que os compõem varia de 6-8, dispostas em fileira. Apresentam-se quase sempre encurvados (como mostra a fig. II), suas paredes são delgadas, de natureza celulósica, e algumas de suas últimas células possuem grandes vacúolos cheios de substância às vezes com aspecto granuloso e intensamente corável pelo Sudan IV, possivelmente óleos essenciais ou resinas (foto ns. 9 e 10-G).

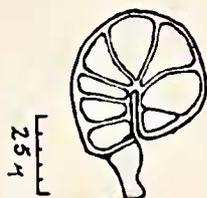


Fig. II

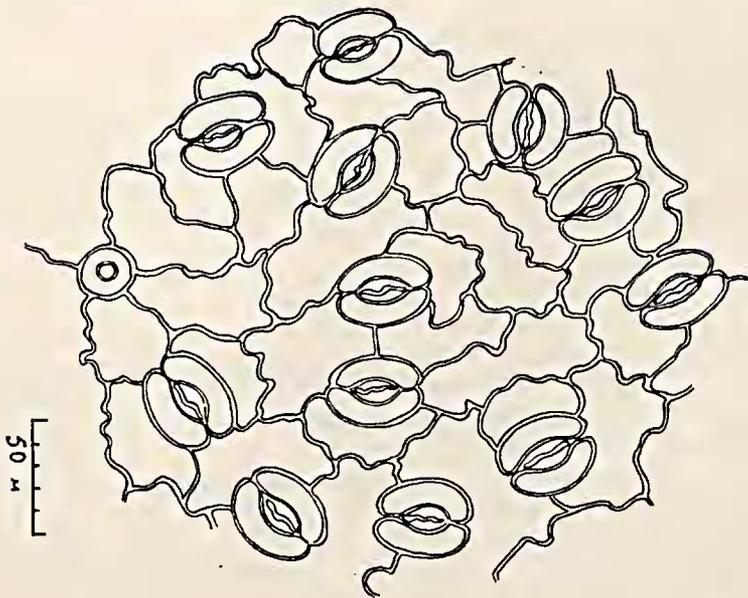


Fig. III

3 — *Estômas* — Numerosos, de 280 a 320/mm². Em vista frontal observamos que medem no maior diâmetro cerca de 39 micra, e cerca de 30 no menor diâmetro. O estíolo é freqüentemente sinuoso ou denteado, mais raramente liso e retilíneo (fig. III).

Nos cortes transversais e longitudinais observamos que a célula estomática é recoberta por uma espessa camada cuticular. Esta forma uma "crista" bem pronunciada, limitando um pequeno átrio, que estabelece comunicação com a câmara subestomática através do ostíolo. Nes-

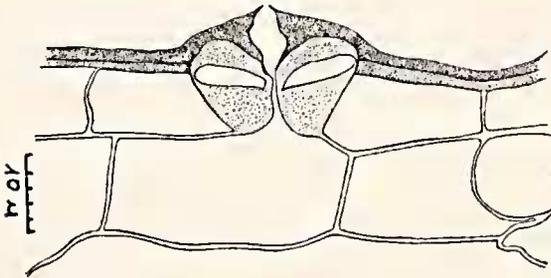


Fig. IV

tes mesmos cortes, verificamos que as células guardiãs têm lume reduzido na região central, e um pouco mais dilatado próximo aos polos. A câmara subestomática é pouco profunda, e se estende até cerca da metade das células que a ladoam o estôma (foto n.º 3 e fig. IV).

PARÊNQUIMA CLOROFILIANO

Visto transversalmente o tecido palicádico é composto de um só estrato de células bem alongadas, com cerca de 70 a 80 micra de altura, o que corresponde a um pouco menos da metade do mesófilo, o qual mede cerca de 184 micra (foto n.º 4). Observamos em seu interior, além de bonitos cloroplastas de forma ovóide, grandes vacúolos, e os núcleos. Possuem também abundantes tanóides, constatados principalmente pelo FeCl₃ a 2,5%, ficando intensamente corados de castanho-escuro. Noutros cortes, deixados em álcool a 85% por 24 horas e corados em seguida pelo FeCl₃ a 2,5%, durante 30', verifica-se a ausência quase total de coloração referida, conseqüência da dissolução dos tanóides pelo álcool.

As paredes anticlíneas são finas com muitas pontuações simples, e ao longo das mesmas infiltram-se ramificações de esclerócitos que atingem as paredes periclíneas internas das células epidérmicas, parecendo reforçar êsse local (fotos 5 e 5a). Para melhor compreensão de sua estrutura, vários esclerócitos dissociados foram representados na fig. V.

Os cortes paradérmicos permitem apreciar a rede formada pelos esclerócitos e suas ramificações (foto n.º 6).

O corpo destes esclerócitos se localiza no limite do tecido palicádico com o lacunoso, onde passam os feixes fibrovasculares do mesófilo, com os quais parecem ter relação. Notamos, em média, quatro ou cinco ramificações primárias de cada esclerócito, havendo freqüentemente outras secundárias. Nas espessas paredes, são visíveis pontuações em fenda oblíqua, semelhantes às das fibras.



Fig. V

Nos feixes fibrovasculares, destacam-se os vasos anelados e espiralados característicos da estrutura primária. Os feixes são geralmente acompanhados por elementos cristalíferos.

O parênquima esponjoso (foto n.º 4) é constituído por cêrca de 5 estratos celulares, cujos elementos têm forma irregular e paredes finas de natureza pecto-celulósica. Seu conteúdo é mais escasso que o das células paliçádicas, mas em tudo semelhante ao destas. As reações microquímicas indicam ser êste tecido também rico em tanoides. As lacunas existentes entre as células são relativamente pequenas.

No mesofilo existem também bonitos laticíferos ramificados, que aparecem mais evidentes nas preparações coradas com Sudan IV (foto n.º 7).

BORDO (foto n.º 8)

Na região do bordo, as células das duas epidermes não se afastam do já descrito, porém as da paliçada vão diminuindo de altura à medida que se aproximam da aresta. A última célula da paliçada está em contacto com o clorênquima esponjoso, que se inicia por uma ou duas camadas apenas, aumentando o número de estratos celulares à medida que se afasta do bordo para o centro do mesofilo. Observamos ainda que o feixe fibrovascular, bem como os esclerócitos, chegam quase até à extremidade do bordo, embora mais escassos. Pêlos e estômas ocorrem nessa região, com as mesmas características já assinaladas. Convém notar que nenhum reforço de esclerênquima ou colênquima é observado na aresta.

NERVURA PRINCIPAL (foto n.º 9)

1 — *Epiderme adaxial* — Em corte transversal, mostram as células seção aproximadamente quadrangular, com a altura de 25 a 30 micra, tendo as paredes externas aproximadamente 3 micra de espessura. Vista de face, apresenta paredes praticamente retilíneas, podendo ser aqui observados estômas dispostos mais ou menos em filas lineares. Nos ângulos da nervura podem ser vistos alguns pêlos glandulares.

2 — *Epiderme abaxial* — Em corte transversal mostram suas células seção menos regular com cerca de 20 a 25 micra de altura. Suas paredes são espessadas, mas um pouco menos que as correspondentes da face superior. Encontram-se aqul numerosos pêlos unicelulares e pluricelulares, do mesmo tipo já citado.

Logo em seguida às duas epidermes, vem o colênquima, de tipo anguloso, em número variável de camadas celulares, sendo mais numerosas na face adaxial. Ocorrem aí algumas drusas de oxalato de cálcio, bem como alguns tubos secretores. Mais para o interior aparece o parênquima fundamental, cujas células são relativamente grandes, com paredes delgadas, pecto-celulósicas, com formas e dimensões variáveis, deixando entre si pequenos meatos. Notam-se ainda neste tecido idioblastas cristalíferos e algumas células esclerosadas.

Cercando o conjunto de felxes libero-lenhosos, há um anel completo de esclerênquima, constituído de fibras com paredes espessas lignificadas, dotadas de pontuações simples em fenda curta e oblíqua, e que aparecem em seção transversal como se vê na nervura secundária constante da foto n.º 10. Com um diâmetro de cerca de 23 a 25 micra, apresentam com freqüência as duas extremidades bi e trífurcadas, também assinaladas pelo Prof. MILANEZ no endocarpo desta planta (1).

O referido conjunto tem uma forma ovalada e encerra no seu interior parênquima fundamental ou medular, muito semelhante ao parênquima fundamental externo, contendo, inclusive, drusas de oxalato de cálcio.

Na porção liberiana dos feixes, além das células do parênquima radial e axial, de seção geralmente maior e arredondada, encontram-se os elementos típicos do liber, ou sejam, tubos crivados e células companheiras (uma para cada tubo). Na porção lenhosa dos feixes, encontram-se fileiras radiais de vasos cujo diâmetro aumenta, regularmente, de dentro para fora, sendo ainda em geral perceptíveis os de protoxilema. Estes estão habitualmente cercados por um parênquima de células pequenas de paredes celulósicas, exceto na sua porção mais interna onde são lignificadas (parênquima perimedular).

NERVURA SECUNDÁRIA

As nervuras secundárias apresentam-se idênticas às primárias, notando-se porém, uma redução dos estratos celulares tanto do colênquima como do parênquima fundamental.



O esclerênquima forma um anel completo, tendo em seu interior os feixes libero-lenhosos, também em menor número que o das nervuras primárias, e dispostos mais irregularmente, não havendo parênquima fundamental em seu interior.

Na nervura sub-marginal a disposição ainda é idêntica, havendo porém apenas um grande feixe libero-lenhoso (foto n.º 10).

Fato curioso é que o estrato de células paliçádicas não desaparece aí notando-se entretanto uma diminuição da sua altura, como pode ser notado na mesma foto.

RESUMO

Versa o presente trabalho sobre a anatomia da fôlha adulta do guaraná, *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, havendo sido observadas as seguintes características principais: — Epiderme uniestratificada em ambas as faces protegida por cutícula, mais espessa na face ventral. A epiderme dorsal apresenta estrias próximo à inserção dos pêlos. Estômas simples do tipo anomocítico. Paliçada uniestratificada; suas células diminuem de altura ao nível da nervura principal, da secundária e do bordo. Ao longo de suas paredes anticlineas infiltram-se ramos de notáveis esclerócitos. Estes apresentam ramificações primárias e secundárias formando como que um reforço não só nas paredes periclíneas internas da epiderme como ao longo dos feixes fibrovasculares. O tecido esponjoso é mais ou menos compacto, com lacunas pouco desenvolvidas. O mesofilo contém grandes laticíferos ramificados. O esclerênquima envolve os feixes libero-lenhosos formando anel circular tanto na nervura principal como nas secundárias. O parênquima fundamental e medular da nervura principal contém muitas drusas de oxalato de cálcio; possuindo algumas também as nervuras secundárias. Encontra-se colênquima abaixo das duas epidermes na nervura principal e nas secundárias.

SUMMARY

The anatomy of the leaf of "guaraná", *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, was studied, and the following characteristics were observed: — Unistratified epidermis in both leaf surfaces, protected by a thicker cuticle on the ventral side. Conspicuous striae only found at dorsal epidermis, radiating from the hair bases. Stomata (anomocytic type) only occurring at the dorsal epidermis and along the veins at the ventral epidermis. Unistratified palisade, with cells diminishing in size at the principal and secondary veins, and close to the leaf border. Curious sclereids run along the fibrovascular bundles and send branches along the palisade cells, and underneath the upper epidermis.

Spongy parenchyma rather compact, with small intercellular spaces. In the mesophyll, branched laticifers were found.

Both in main and in secondary veins: sclerenchyma surrounds the vascular bundles, forming a complete ring; ground and pith parenchyma inclose calcium oxalate druses; collenchyma occurs below the epidermises.

AGRADECIMENTOS

Consignamos aqui os melhores agradecimentos pelo auxílio e contribuição de sua experiência em benefício do presente trabalho aos Professores FERNANDO ROMANO MILANEZ e RAUL DODSWORTH MACHADO, e à colega CECÍLIA GONÇALVES COSTA.

DESCRIÇÃO DAS MICROGRAFIAS

Foto n.º 1 — Epiderme superior destacada pela mistura de Jeffrey e corada pela safranina. Paredes muito sinuosas (S); e adelgaçamentos nas paredes externas (A). Fotomicrografia em contraste de fase, x 800.

Foto n.º 2 — Epiderme inferior; fotomicrografia de réplica de colódio, que mostra os estômas (E) as sinuosidades (S) das paredes celulares, a inserção dos pêlos (I) e as estrias epicuticulares junto às mesmas (Es). x 300.

Foto n.º 3 — Seção transversal do estômato, fixado pelo ácido ósmico e incluído em metacrilato. Cristas (C) formadas por projeções da camada cutinizada (Ct), células estomáticas (Ce) de lumen quase totalmente tomado pelo núcleo (N). O- ostíolo, A- âtrio, Cs- câmara sub-estomática, Cc- camada celulósica. Eletromicrografia, de corte ultra-fino, contraste intensificado pelo Pb. x 3.000.

Foto n.º 4 — Corte transversal do limbo. Material fresco, tratado ligeiramente pelo hipoclorito e corado pela safranina-verde rápido. E- epiderme superior, Ei- epiderme inferior, P- paliçada, Pe- parênquima esponjoso. Fotomicrografia, x 300.

Foto n.º 5 — Corte transversal do limbo ligeiramente tratado pelo hipoclorito e corado pela safranina-verde rápido. F- Feixe fibrovascular. E- esclerócitos que se insinuam entre as paredes da paliçada. x 300.

Foto n.º 5a — Esclerócito dissociado pela mistura de Jeffrey, mostrando as ramificações que chegam às células epidérmicas. Fotomicrografia em contraste de fase x 400.

Foto n.º 6 — Corte paradérmico de material fresco, corado pela safranina-verde rápido. Rêde formada pelos esclerócitos (E). x 160.

Foto n.º 7 — Corte paradérmico de material fresco, tratado pela hematoxilina-Sudan IV, vendo-se os laticíferos ramificados (L). x 200.

Foto n.º 8 — Seção transversal do bordo da fôlha. Material fresco diafanizado pelo hipoclorito e corado pela safranina-verde rápido.

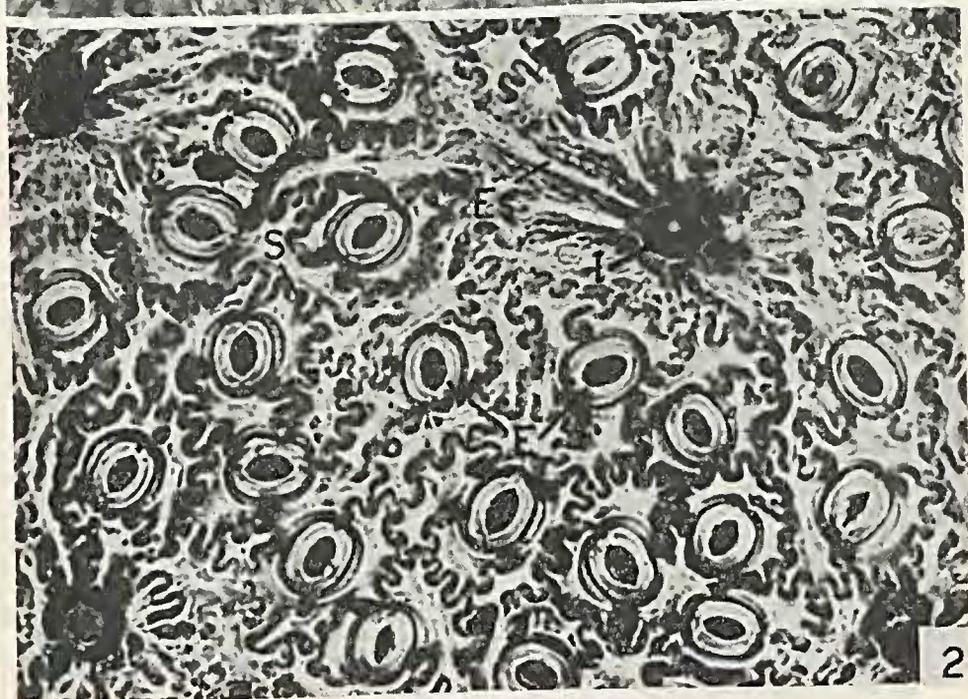
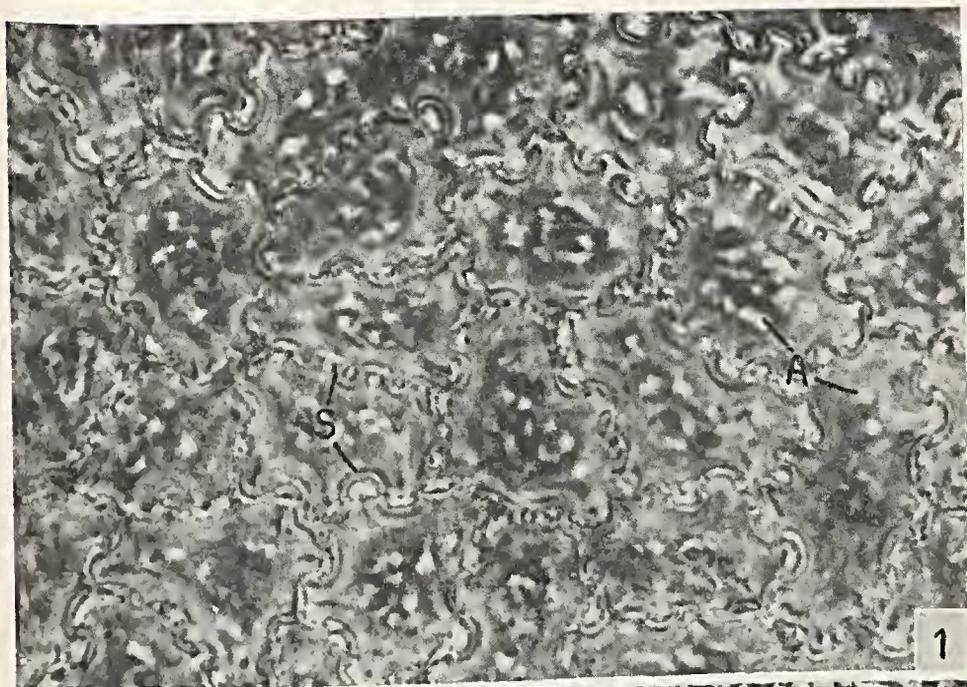
Foto n.º 9 — Corte transversal da nervura principal. Material fresco, tratado pelo hipoclorito e corado pela safranina-verde rápido. Vêm-se algumas drusas de oxalato de cálcio (D), tubos secretores (T), pêlos unicelulares (P) e pêlos glandulares (G). x 73.

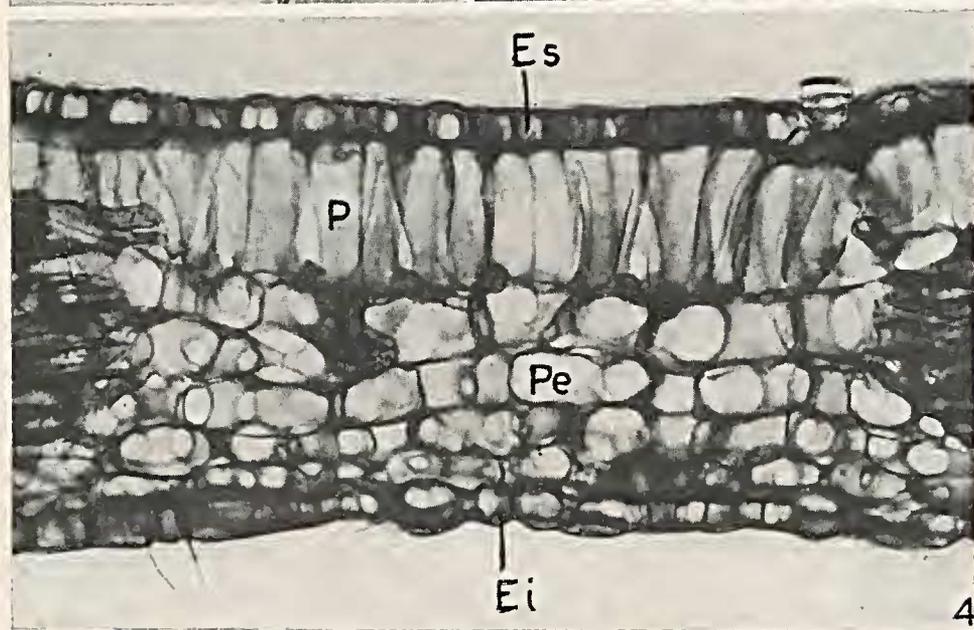
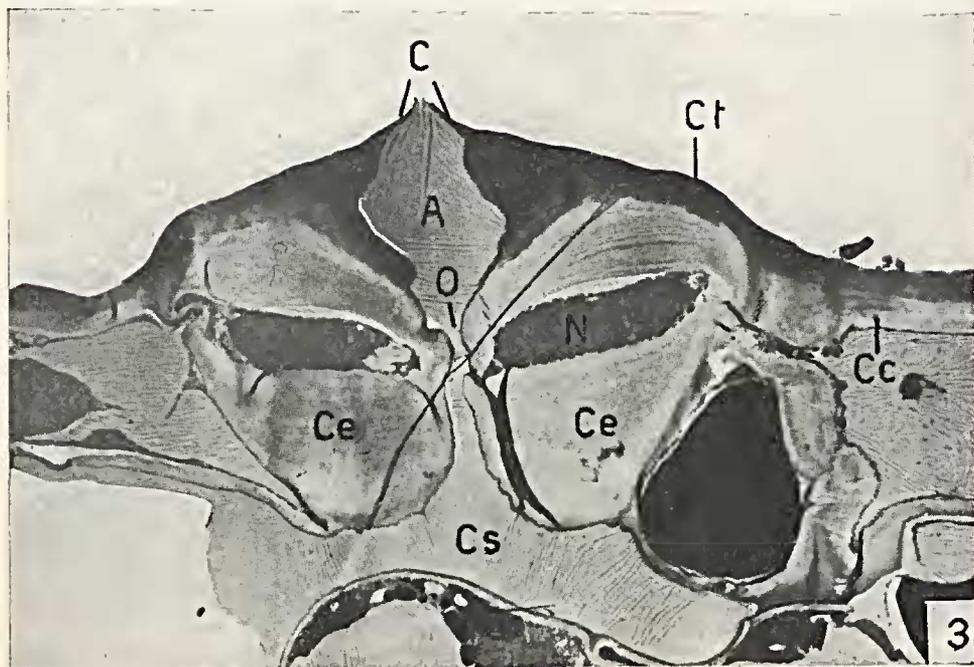
Foto n.º 10 — Corte transversal da nervura secundária. Material fresco, tratado ligeiramente pelo hipoclorito e corado pela safranina-verde rápido. Feixe libero-lenhoso (F) e pêlo glandular (G). x. 340.

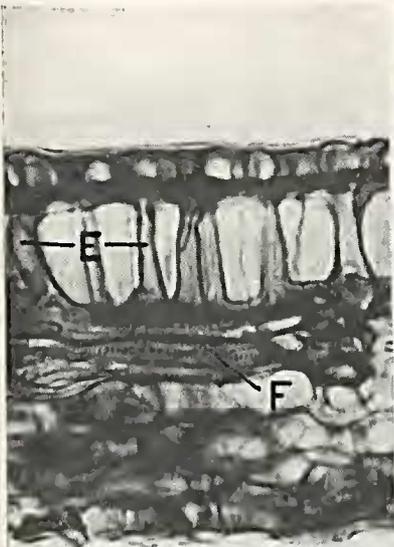
BIBLIOGRAFIA

- 1 — MILANEZ, F. R. — Anatomia do Fruto do Guaraná — Arquivos do Jardim Botânico, Rio de Janeiro, 16: 59-100. 1958.
- 2 — GONÇALVES, Cecília R. — Sobre a Anatomia da Fôlha de *Rauwolfia grandiflora* Mart. (Apocinaceae). Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 18: 293-306. 1962-1965.
- 3 — MACHADO, Othon — Contribuição ao Estudo das Plantas Medicinais do Brasil — O Guaraná — *Rodriguésia*, 10 (20): 89-123. 1946.
- 4 — METCALF, C. R. e L. CHALK — *Anatomy of the Dicotyledons* — Oxford University Press 1: 419-431. 1957.
- 5 — ARENS, Karl — Sobre a Anatomia da Semente do Guaraná — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 1956.
- 6 — CASTRO, G. de Oliveira — Emprêgo da ocular interferencial de Françon no exame de réplicas de material biológico. *Rev. Biol. Rio de Janeiro*. 21 (4): 467-470. 1961.
- 7 — GUPTA, B. — Absolute Stomatal Numbers — *Annals of Botany, Londres* 25 (97) 71-77. 1961.
- 8 — ESAU, K. — *Anatomia Vegetal* (traduzido da edição original "Plant Anatomy", por Dr. José Pons Rossell) Barcelona, 1959.
- 9 — SOLEREDER, Hans — *Systematische Anatomie der Dicotyledonen*.
- 10 — HABERLANDT, G. — *Physiological Plant Anatomy* (traduzido da 4.^a edição alemã por M. Drummond) Londres, 777 p. 1928.
- 11 — RADLKOFER — Sapindaceae, in *Pflanzenreich*: 98:1-1539 (1931-1934).
- 12 — MILANEZ, F. R. — Sobre os Laticíferos Foliares de *Ficus retusa*. *Rodriguésia*, 16-17 (28-29): 159-192. 1954.
- 13 — MILANEZ, F. R. — Nota sobre a Anatomia da Fôlha de *Coccoloba cereifera* Schwacke. *Rodriguésia*, 14 (26): 23-39. 1951.
- 14 — FOSTER, A. S. — *Practical Plant Anatomy* — Second Edition, D. Van Nostrand Company, 1949.

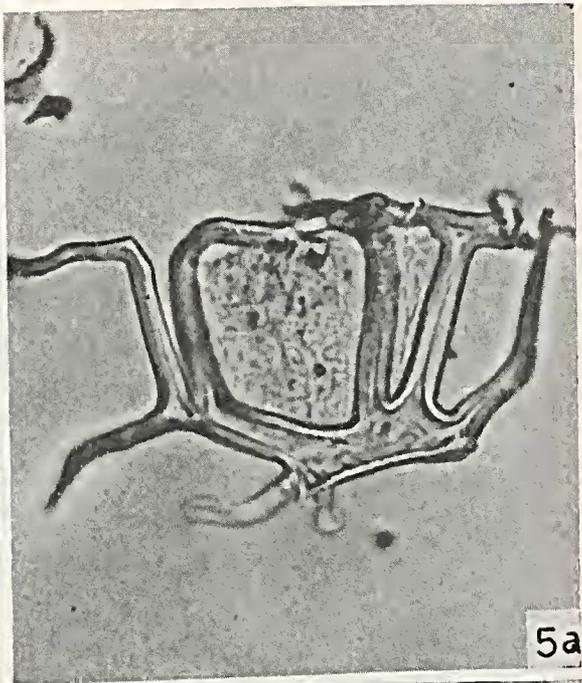




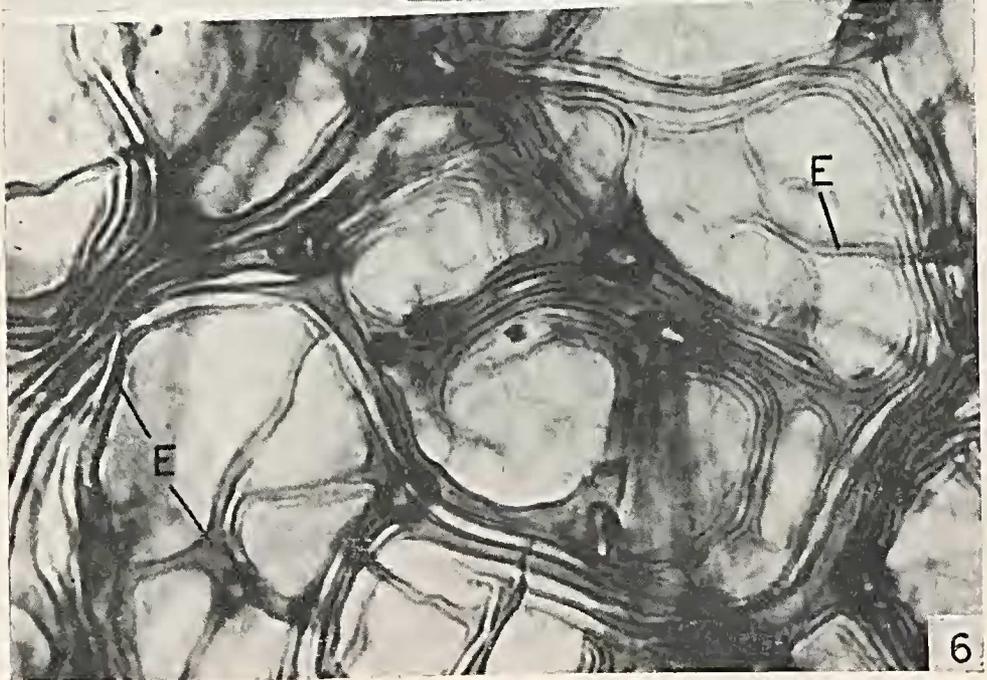




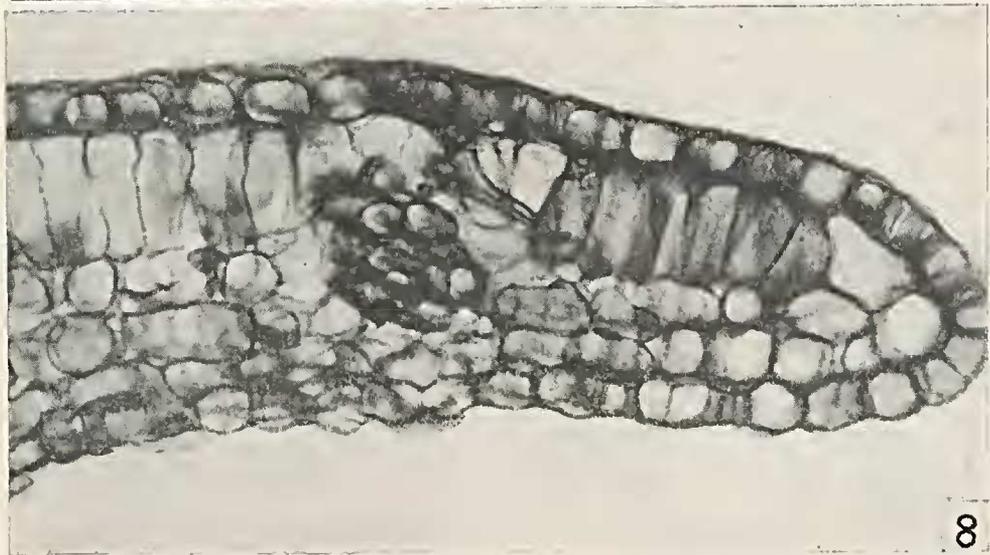
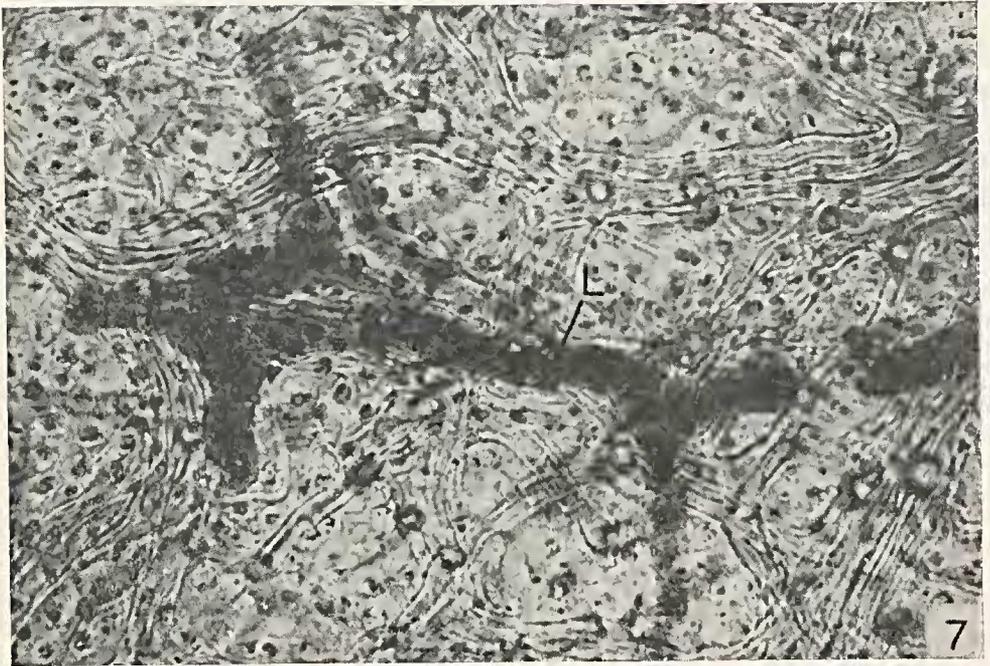
5

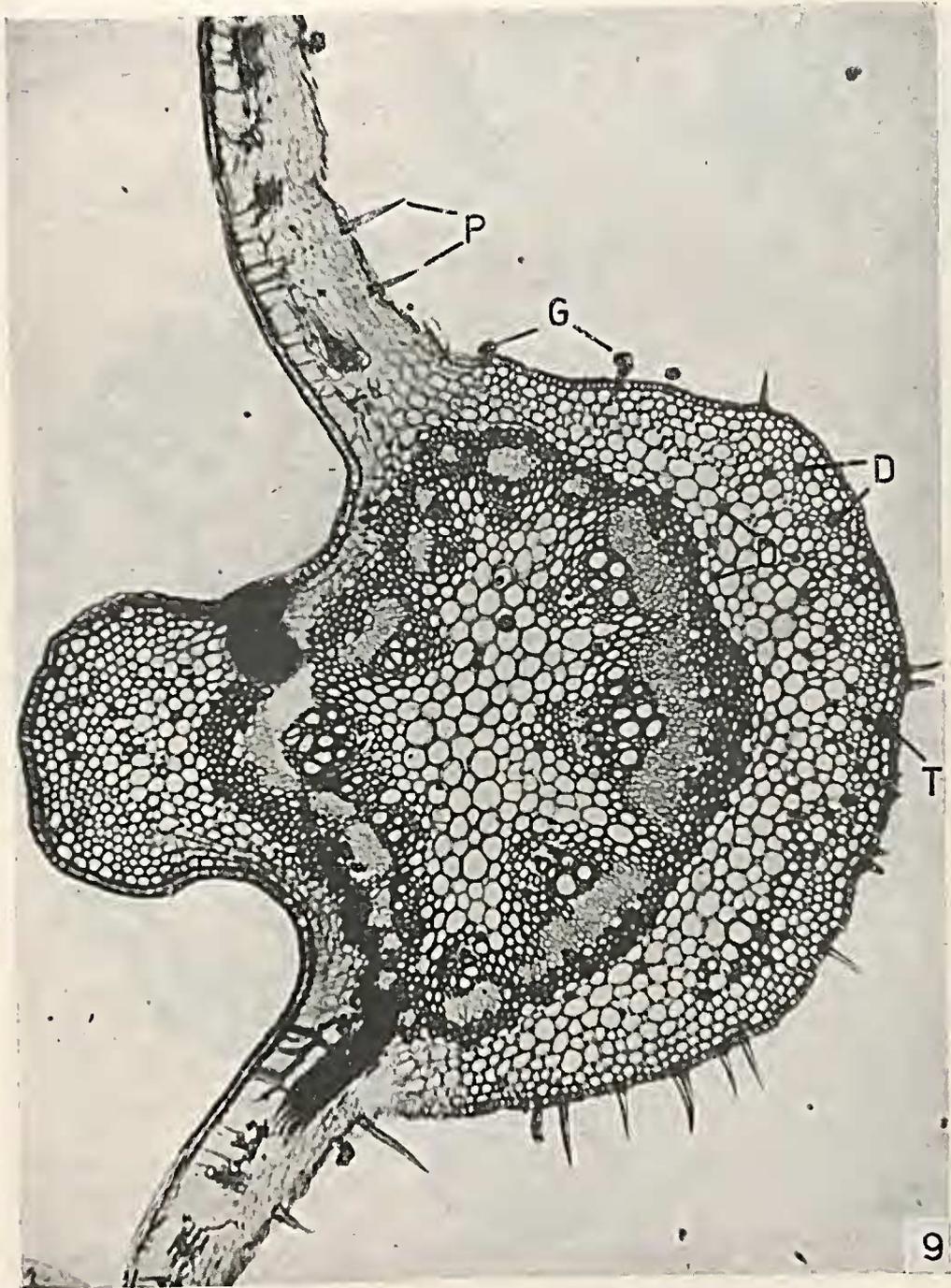


5a

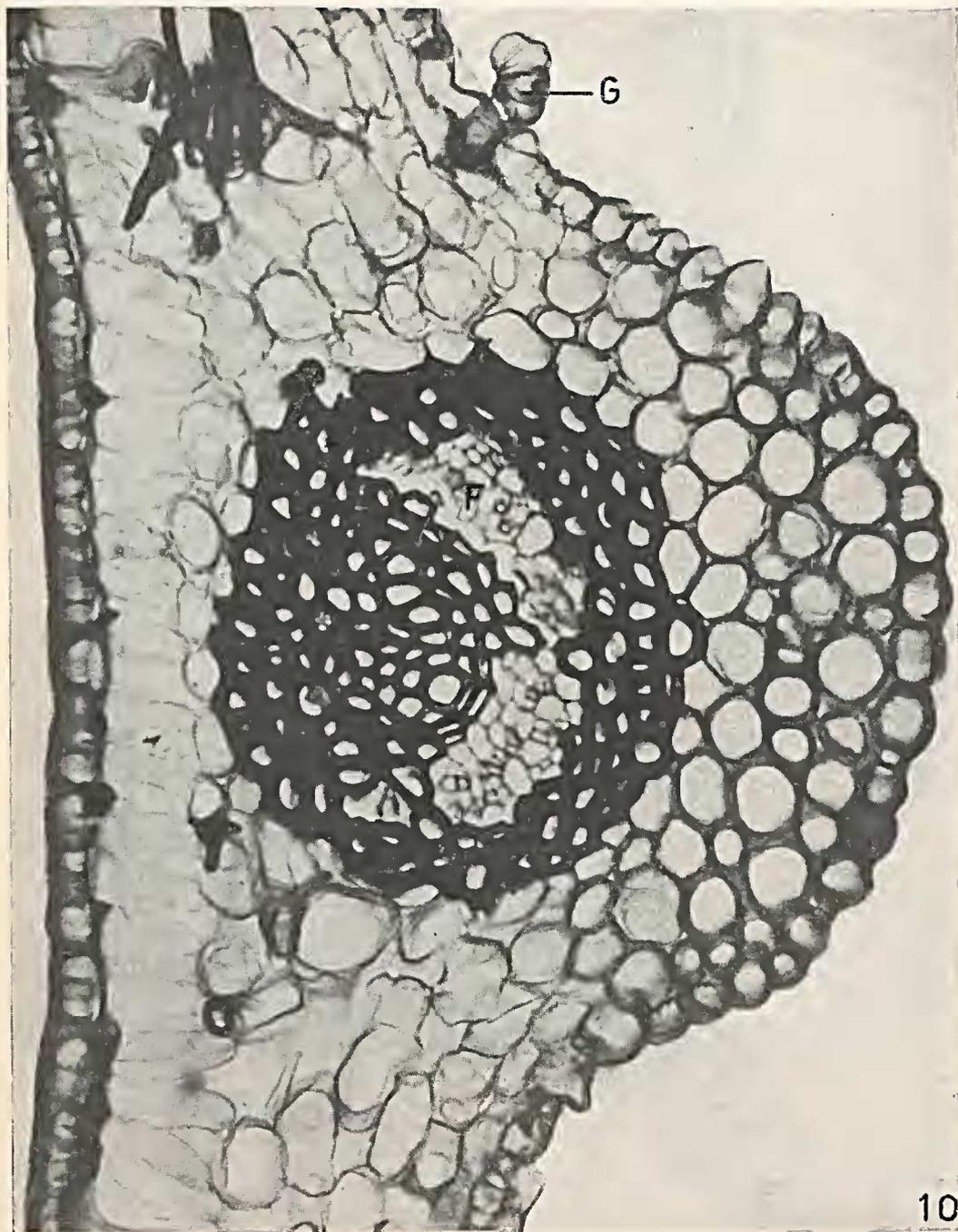


6





9



ESTRUTURA MICROSCÓPICA E SUB-MICROSCÓPICA DA MADEIRA DE *BAUHINIA FORFICATA* LINK (LEG. CAES.)

RAUL DODSWORTH MACHADO,
ARMANDO DE MATTOS FILHO e
JÔNIA MARIA GUEDES PEREIRA
Jardim Botânico do Rio de Janeiro *

INTRODUÇÃO

A importância da melhor compreensão da estrutura do lenho é evidente, uma vez que as propriedades da madeira decorrem, em última análise, da natureza e arranjo das células que a constituem.

A investigação da anatomia da madeira segue padrões já bem estabelecidos por longa e sedimentada experiência. Entretanto, os esclarecimentos relativos à sua sub-estrutura provinham, até 1950, de métodos indiretos — a microscopia com luz polarizada e a difração de raios X.

Assim, quando o microscópio eletrônico e técnicas adequadas de preparação permitiram ver diretamente detalhes ultra-finos, inclusive as microfibrilas de celulose cujo diâmetro é da ordem de 20 milimicra, desenvolveu-se intensa e extensamente a aplicação deste método; os resultados mais importantes da década 1950-1960 foram resumidos por LIESE e CÔTÉ (11).

A bibliografia atual dedicada à estrutura fina de madeiras é por demais vasta e nos é acessível apenas em parte, razão por que mencionamos somente que a mais importante contribuição provém das escolas de FREY-WYSSLING e MÜHLETHALER, LIESE, WARDROP, PRESTON, CÔTÉ e outros.

Os traqueóides das coníferas foram dos primeiros objetos a serem estudados, dada a relativa simplicidade da anatomia da respectiva madeira, sendo obtidas imagens diretas da trama e orientação das microfibrilas nas diferentes lamelas da parede primária, camadas S1 e S2 da parede secundária, e parede terciária (ou camada S3 da parede secundária).

Foram conseguidos interessantes esclarecimentos sobre a camada verrugosa, que pode revestir a face interna da parede celular, intercalada ou recoberta por um depósito amorfo.

* Todos bolsistas do Conselho Nacional de Pesquisas.

Trabalho realizado em 1964, entregue para publicação em julho de 1965.